

Master 2 Reproduction et Développement
Stage de recherche 2024-2025

Stage proposé par

Nom et adresse du Laboratoire ou de l'Unité :
IBPS-UMR7622 « BIOLOGIE DU DÉVELOPPEMENT »
9 quai Saint Bernard 75005, Paris

Téléphone : 01 44 27 34 48

Mail : thierry.jaffredo@upmc.fr

Site internet : <https://www.ibps.sorbonne-universite.fr/fr/Recherche/umr-biologie-developpement/biologie-ovocyte>

Directeur du Laboratoire ou de l'Unité : Thierry Jaffredo

Intitulé de l'équipe d'accueil :

Prénom et NOM du Responsable de l'équipe : Catherine JESSUS et Enrico DALDELLO

Résumé du thème de recherche de l'équipe (une dizaine de lignes maximum)

La formation du gamète femelle est un prélude essentiel au bon développement embryonnaire. La maturation méiotique, dernière étape de l'ovogénèse, assure l'obtention d'un gamète femelle haploïde apte à la fécondation via la réalisation des deux divisions méiotiques. L'ovocyte bloqué en prophase de 1^{ère} division méiotique (équivalent d'une phase G2 du cycle cellulaire), reprend la méiose sous l'effet d'un signal hormonal au moment de l'ovulation. Ce processus dépend de l'activation de la kinase Cdk1, le facteur universel déclenchant la division cellulaire. Il constitue un modèle de référence pour l'étude des mécanismes qui assurent la transition G2-M du cycle cellulaire. Notre équipe utilise le modèle de l'ovocyte de Xénope pour étudier la voie de signalisation moléculaire initiée par l'hormone (progestérone) et qui conduit à l'activation de Cdk1. Bien que fondamentale pour la connaissance des mécanismes déterminant la division des cellules, elle est encore imparfaitement connue. Son étude permet d'éclairer une étape essentielle de la reproduction sexuée, mais aussi l'origine d'infertilités et de pathologies cancéreuses.

Titre du projet de stage :

Prénom, NOM, téléphone et adresse e-mail du Responsable du stage:

Marika MIOT, 01 44 27 22 96, marika.miot-marinho@sorbonne-universite.fr

Projet de stage : (une vingtaine de lignes maximum)

Chez tous les vertébrés, le maintien des ovocytes en prophase I est dû à une forte activité de la kinase PKA dont l'un des substrats est ARPP19. La protéine ARPP19, phosphorylée par PKA sur la sérine 109 (S109), maintient Cdk1 inactive par un mécanisme encore inconnu. La progestérone entraîne en quelques minutes une chute de l'activité de PKA et la déphosphorylation d'ARPP19 sur S109. Une cascade de signalisation est alors lancée, conduisant à l'activation de Cdk1. Lors de cette étape terminale, ARPP19 est phosphorylée sur la sérine 67 (S67) par une kinase appelée Greatwall. ARPP19 joue alors un nouveau rôle : cette phosphorylation convertit ARPP19 en un inhibiteur de la phosphatase antagoniste de Cdk1, PP2A-B55, ce qui permet l'activation de Cdk1. Ainsi, selon sa phosphorylation, ARPP19 joue des rôles opposés, soit dans le blocage de l'ovocyte en G2 (phosphorylation en S109 par PKA), soit dans l'activation de Cdk1 via l'inhibition de PP2A-B55 (phosphorylation en S67 par Greatwall). Le projet du stage vise à comprendre comment les domaines intramoléculaires de la protéine ARPP19 conditionnent ces deux phosphorylations et comment ces deux phosphorylations, qui affectent deux résidus distincts, influent l'une sur l'autre. Une analyse phylogénétique combinée à des expériences de notre équipe a révélé que certaines séquences d'ARPP19 étaient spécifiques des

Master 2 Reproduction et Développement Stage de recherche 2024-2025

vertébrés, et que la phosphorylation en S109 pourrait être le propre des vertébrés. Afin de déterminer si de nouveaux motifs d'ARPP19 ont présidé à l'acquisition de sa fonction inhibitrice de Cdk1 au cours de l'évolution, des protéines chimères seront produites en échangeant les parties propres aux phyla vertébrés et invertébrés. Les fonctions de ces chimères sur la division cellulaire seront analysées après micro-injection dans des ovocytes de Xénope par des techniques de biochimie et de biologie cellulaire. Ce projet permettra de comprendre le rôle pivot d'Arpp19 qui conditionne la prise de décision de la cellule de se diviser ou non.

Techniques mises en œuvre par le stagiaire :

(1) Biologie moléculaire : clonage, mutagenèse dirigée, transformation bactérienne. (2) Biochimie : expression et purification d'ARNm et protéines recombinantes, séparation ou analyse protéique par chromatographie, essais enzymatiques kinase et phosphatase *in vitro*, western blots, immunoprécipitations et GST-pull downs. (3) Biologie cellulaire : micro-injections dans l'ovocyte (ARNm, morpholinos, protéines recombinantes et inhibiteurs chimiques), suivi de la reprise de la méiose des ovocytes de Xénope.

Publications du Responsable de stage au cours des 5 dernières années :

1. Cross-species analysis of ARPP19 phosphorylation during oocyte division charts the emergence of a new cAMP-dependent role in vertebrates.
Ferdinand Meneau, Pascal Lapébie, Enrico Maria Daldello, Tran Le, Sandra Chevalier, Evelyn Houliston, Catherine Jessus, **Marika Miot**.
En révision à Development. Pré-print: <https://doi.org/10.1101/2023.07.05.547804>
2. Unraveling the Interplay between PKA Inhibition and Cdk1 Activation during Oocyte Meiotic Maturation.
Martina Santoni, Ferdian Meneau, Nabil SekhSoukh, Sandrine Castella, Tran Le, **Marika Miot**, and Enrico Maria Daldello.
Cell Reports 43, 113782 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113782>
3. The M-phase regulatory phosphatase PP2A-B55δ opposes protein kinase A on Arpp19 to initiate meiotic division.
Tom Lemonnier*, Enrico Maria Daldello*, Robert Poulhe, Tran Le, **Marika Miot**, Catherine Jessus, and Aude Dupré. (*Co-first authors)
Nature Communications 12, 1837 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22124-0>

Autres informations:

Etudiants actuellement en thèse ou en M2 dans l'équipe d'accueil. Pour chaque étudiant indiquez le nom du responsable de thèse, l'année du début de la thèse et l'Ecole Doctorale de rattachement

1. Martina Santoni - Responsables : Enrico Daldello and Catherine Jessus, started in 2022, ED515: Complexité du Vivant (Sorbonne Université).
2. M2-student – Clément Barbier. Responsable : Marika Miot, stage M2 2023-2024. M2 Recherche "Reproduction et Développement" Université Paris Cité. Poursuite prévue par l'étudiant : parcours sage-femme.

Etudiants ayant préparé ou soutenu leur thèse ou leur M2 dans l'équipe d'accueil au cours des six dernières années. Pour chaque étudiant indiquez le nom du responsable de l'étudiant, l'année du début de la thèse et de fin de la thèse, l'Ecole Doctorale de rattachement et le devenir de l'étudiant.

1. Ph.D student – Ferdinand Meneau. Responsables : Marika Miot and Catherine Jessus, 2019-2023. ED515: Complexité du vivant (Sorbonne Université). Post-doctorat at University of Edinburgh (UK).

Master 2 Reproduction et Développement
Stage de recherche 2024-2025

2. M2-student - Nabil Sekhsoukh. Responsable : Enrico Maria Daldello, stage M2 2021-2022. M2 Biochimie et Biologie Moléculaire, Sorbonne Université. CDD d'ingénieur France.
3. M2-student - David Perdiques. Responsable : Marika Miot, stage M2 2018-2019. M2 Recherche "Reproduction et Développement" Université Paris Cité.
4. Ph.D student - Tom Lemonnier. Responsable : Aude Dupré, 2016-2019. ED Complexité du Vivant (Sorbonne Université). Post-doctorat University of Bristol (UK) then Yale University (USA).

Cette proposition de stage s'adresse-t-elle spécifiquement à un étudiant scientifique, médecin ou vétérinaire ou bien est-il ouvert à tous les profils ?

Ouvert à tous les profils

Ce sujet peut-il donner lieu à une thèse ?

non